



WYDZIAŁ CHEMICZNY
POLITECHNIKA WARSZAWSKA
Prof. Małgorzata Zagórska



ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa
Tel./fax: +48-222345584/ +48-22-2347271;
e-mail: zagorska@ch.pw.edu.pl

Warszawa dn. 20.07.2017

Recenzja rozprawy doktorskiej
p.t. „**Micele jako nanosensory fluorymetryczne**”
pani mgr Katarzyny Kłucińskiej

Pani mgr Katarzyna Kłucińska przedstawiła do oceny pracę doktorską p.t. „Micele jako nanosensory fluorymetryczne”, wykonaną w Pracowni Teoretycznych Podstaw Chemii Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, pod kierunkiem pani prof. dr hab. Agaty Michalskiej - Maksymiuk. Tematyka rozprawy dotyczy wytwarzania i badania mechanizmu działania różnego rodzaju sensorów o wielkości nanometrycznej, przeznaczonych do fluorymetrycznego oznaczania jonów potasowych, wapniowych lub wodorowych, a także do oznaczania zawartości wody w rozpuszczalnikach aprotycznych. Zakres pracy jest bardzo szeroki i obejmuje opracowanie metod otrzymywania i analitycznego zastosowania nanocząstek o bardzo różnej budowie, zarówno polimerowych jak i małowcząsteczkowych, charakteryzujących się różnymi mechanizmami działania.

Dysertacja liczy 168 stron, w tym około 70 stron zajmuje przegląd literatury, którego objętość do pewnego stopnia usprawiedliwiona jest szerokim zakresem przeprowadzonych badań. Pierwszy rozdział części literaturowej, zatytułowany „Kolorymetria i fluorymetria z ekstrakcją” napisany jest trochę chaotycznie i w moim odczuciu obejmuje zbyt wiele zagadnień. Zamiast podzielić go na kilka podrozdziałów, co uporządkowałoby zawarte w nim informacje, Autorka umieściła w nim tylko jeden podrozdział (1.1). Uwaga ta jednak nie kwestionuje wartości merytorycznej całości przeglądu literaturowego zamieszczonego w dysertacji, który świadczy o dużej wiedzy Doktorantki na temat wytwarzania i zastosowania sensorów optycznych.

Następna część pracy poświęcona jest krótkiemu przedstawieniu stosowanych przez Autorkę metod pomiarowych, poza omówionymi już wcześniej metodami spektrofotometrycznymi. Były to elektronowa mikroskopia skaningowa i transmisyjna,

metoda dynamicznego rozpraszania światła oraz pomiary potencjału Zeta. W kolejnym rozdziale Doktorantka podała spis używanej aparatury, odczynników, a także opis wszystkich procedur eksperymentalnych. Szkoda, że Autorka nie zamieściła zestawienia stosowanych (bardzo licznych) skrótów, co znacznie ułatwiłoby lekturę pracy. Czysto redakcyjne zastrzeżenie, dotyczące całej pracy, budzi dość nietypowe stosowanie przez Autorkę łącznika „lub” zamiast „i” w podpisach pod rysunkami w sytuacji, gdy pokazywane są dwa lub więcej wykresów na jednym rysunku. To samo dotyczy nagłówków tabel, opisujących przedstawiane w nich różne dane.

W omawianej dysertacji można znaleźć pewne nieścisłości nomenklaturowe. Prawidłowa nazwa stosowanego w badaniach polimeru przewodzącego brzmi poli(3-oktylotiofen-2,5-diyl), a nie poli(3-oktylotiofen-2,5-dyl). Powinno być napisane jony amoniowe, a nie amonowe (str. 38), kwas cyjanowalerianowy, a nie cjanowalerianowy (str 78), oranż akrydyny, a nie akrynidyny (podpis pod rys. 28, str. 44). Na tym samym rysunku znajduje się też błąd w strukturze związku, w której brakuje atomów azotu w dwóch grupach aminowych. Usprawiedliwieniem dla Doktorantki jest fakt, że jest to powielenie pomyłki autorów cytowanej przez Nią pracy [69] i zamieszczony schemat został wklejony do dysertacji bez zmian w stosunku do oryginału. Należałoby też sprostować podpis pod rysunkiem 12, gdyż nie wszystkie przedstawione na nim wzory są formami tautometrycznymi 4-metyloumberliferonu. Wzór oznaczony jako A pokazuje jego formę anionową.

Doktorantka przedstawiając wzory strukturalne związków chemicznych, o których pisze, z reguły podaje jako odnośnik literaturowy stronę internetowego katalogu Aldricha. Uważam, że jest to niewłaściwe. W dodatku, w przypadku Rys. 51, podpisanego „Wzór strukturalny poliamidu”, można by sądzić, że struktura przedstawionego na nim związku odpowiada ogólnej strukturze poliamidów. Tymczasem jest to tylko szczególny przypadek związku należącego do różnorodnej grupy polimerów zawierających ugrupowania amidowe w łańcuchu głównym.

Tak jak wspomniano powyżej, zakres dysertacji jest bardzo szeroki i obejmuje szereg różnorodnych zagadnień. W związku z tym Autorka omówiła otrzymane wyniki badań w kilku odrębnych rozdziałach.

Pierwszy z nich poświęcony jest systematycznej charakterystyce miceli otrzymanych z modelowego surfaktanta anionowego (chlorku cetylotrimetyloamoniowego), surfaktanta kationowego (dodecylosiarczanu sodu), polimeru o nazwie handlowej Pluronic F – 127, będącego polieterem o budowie blokowej oraz polimeru naprzemiennego - poli(bezwonika maleinowego–*alt*-1-oktadekenowego) (PMAO). Przeprowadzone prace obejmowały

określenie stabilności wytworzonych nanocząstek w środowisku o różnym pH, oraz zbadanie odpowiedzi optycznej w obecności takich fluoroforów jak czerwień Nilu lub piren, a także po wprowadzeniu do miceli modelowego receptora – 1-(2-pirydylazo)-2-naftolu (PAN). Dla układów zawierających cząsteczki PAN zbadano wpływ stężenia jonów cynku oraz niklu obecnych w analizie na postać widm absorpcyjnych zawiesin. W wyniku tworzenia barwnych kompleksów z jonami metali obserwowano pojawienie się nowych pasm absorpcyjnych z jednoczesnym zanikiem pasma związanego z samą cząsteczką PAN. W omawianym rozdziale można znaleźć bardzo wnikliwą dyskusję otrzymanych rezultatów, prowadzącą do wniosków pozwalających na wybór jednego z badanych układów do dalszych prac nad sensorami optycznymi. Do pełnej charakterystyki porównawczej nanocząstek, wytworzonych z różnych związków, zarówno polimerowych jak i małowielkocząstkowych, zabrakło mi jedynie podania ich rozmiarów.

Informacje dotyczące rozmiarów miceli PMAO można znaleźć w rozdziale 12, gdzie dodatkowo przedstawiono zmiany jakie zachodzą po wprowadzeniu do ich wnętrza odpowiednich składników sensora (barwnika i jonoforu). Nanocząstki PMAO zawierające Chromofor I, czyli pochodną benzofenoksazyny, posłużyły do oznaczania stężenia jonów wodorowych, wapniowych oraz potasowych. W tym pierwszym przypadku, w sposób bezpośredni wykorzystano zależność właściwości emisyjnych chromojonoforu od stopnia jego protonowania. Należy podkreślić, że uzyskano w ten sposób czułą na pH optodę, działającą w sposób odwracalny. Z kolei do oznaczania jonów wapniowych zastosowano nanocząstki, w których grupy bezwodników maleinowych w kopolimerze PMAO poddano hydrolizie, uzyskując grupy kwasowe zdolne do wiązania kationów wapniowych. Wraz ze wzrostem stężenia Ca^{2+} w roztworze, zmniejszała się liczba wolnych grup kwasowych, co prowadziło w konsekwencji do deprotonowania Chromoforu I i zwiększania intensywności jego fluorescencji. Podobny układ zastosowano do oznaczania jonów potasowych, wymagał on jednak obecności dodatkowych składników, między innymi czulej na te jony walinomycyny. Ciekawym pomysłem było dołączenie dodatkowego barwnika (pirenu) do nanocząstek tworzących sensory do oznaczania K^+ . Piren pełnił tu rolę fluoroforu referencyjnego, którego emisja była niezależna od stężenia analitu. Przyłączenie kowalencyjne pirenu do nanocząstek PMAO opisano w części eksperymentalnej. W spisie odczynników nie znalazłam jednak stosowanych w tej syntezie reagentów, tzn. kwasu 1-pirenobutanowego oraz związku o nazwie podanej tylko skrótem EDC.

Na szczególną uwagę zasługuje rozdział 11, poświęcony fluorymetrycznemu oznaczaniu wody w rozpuszczalnikach aprotycznych, a także w oliwie i olejach spożywczych,

gdyż widoczny jest tu duży potencjał aplikacyjny opracowanej metody. Wykorzystano w niej 4-metyloumbeliferon (4-MU), którego właściwości emisyjne zależą od stopnia protonowania. Woda obecna w rozpuszczalniku działa jako akceptor protonów przesuwając równowagę w stronę tworzenia formy anionowej 4-metyloumbeliferonu, wykazującej intensywną fluorescencję z maksimum przy ok. 450 nm. Dodatkowo obecność oktyloaminy o odpowiednim stężeniu pozwala na oznaczanie wody z większą czułością niż metodą Karla – Fischera w tych samych układach. Zaproponowano również modyfikację zastosowanej procedury, wprowadzając do układu dodatkowy barwnik azowy (Sudan I), który pełnił rolę absorbera promieniowania w procesie rezonansowego przeniesienia ładunku (RET). Powoduje to, w niektórych przypadkach, korzystne przesunięcie batochromowe maksimum emisyjnego pasma diagnostycznego (do ok. 540 nm). Autorka omawiając możliwe oddziaływania między cząsteczkami obydwu barwników, uczestniczących w procesie RET, przedstawia wnioski (str 126), które mają według Niej wynikać z przeprowadzonych pomiarów dyfrakcji rentgenowskiej. Niestety nie podaje konkretnych wyników tych pomiarów, ani rodzaju zastosowanej metody, ani żadnych szczegółów dotyczących przygotowania próbek do badań.

Ostatni rozdział dotyczy wykorzystania właściwości fluorescencyjnych nanocząstek poli(3-oktylotiofenu) do selektywnego oznaczania jonów potasowych w szerokim zakresie stężeń od 10^{-5} do 10^{-1} M. Doktorantka z powodzeniem zrealizowała tu bardzo oryginalny pomysł wykorzystania do celów analitycznych zależności widma emisyjnego polimeru skoniugowanego od stopnia jego utleniania. Należy jednak pamiętać, że właściwości fizykochemiczne polimeru, które w tym przypadku odgrywają kluczową rolę, zależą od struktury łańcucha, jego regioregularności, masy molowej i jej rozrzutu. Należałoby w części eksperymentalnej pracy zamieścić pełną charakterystykę używanego polimeru. Podanie jedynie dostawcy materiału tu nie wystarcza, bo Aldrich ma obecnie w swojej ofercie trzy różne związki, z czego dwa o regioregularnej strukturze, a w przyszłości liczba i rodzaj oferowanych przez tę firmę produktów może ulec zmianie. W interpretacji widm absorpcyjnych i emisyjnych zarejestrowanych dla nanocząstek poli(3-oktylotiofenu) (Rys. 114) Doktorantka powołuje się na pracę z 2007 roku (odnośnik [31]). Właściwości optyczne poalkilotiofenów były badane szczegółowo, co najmniej 10 lat wcześniej, na początku i w połowie lat dziewięćdziesiątych. Wiadomo, że zmiany zachodzące pod wpływem utleniania politiofenów i ich pochodnych dotyczą nie tylko widm fluorescencyjnych, lecz także absorpcyjnych, zarówno rejestrowanych dla roztworów tych polimerów jak i cienkich warstw. To zagadnienie omówione zostało zresztą przez Autorkę w części literaturowej i zilustrowane

rysunkiem 14 A. Interesujące, czy również dla politiofenu mającego postać nanocząstek zauważyć można analogiczne (do pokazanych na Rys. 14A) zmiany w widmie absorpcyjnym pod wpływem zwiększenia stopnia utlenienia. Czy rejestrowano widma absorpcyjne nanocząstek w zakresie długości fali większej niż pokazano na rys. 114, tzn. powyżej 700 nm, gdzie można spodziewać się pasm absorpcyjnych związanych z obecnością kationorodników i/lub dikationów? Opis eksperymentalny dotyczący przygotowania roztworów do pomiarów fluorescencji w obecności jonów potasu o różnym stężeniu jest dość lakoniczny. Jakie było kryterium doboru składu roztworu, tzn. zawartości nanocząstek poli(3-oktylotiofenu) w badanych analitach i czy próbowano ją optymalizować, pod względem intensywności czy liniowości odpowiedzi spektralnej? Ponadto, równanie 33 dotyczące mechanizmu formowania sygnału analitycznego nie jest całkiem jasne. Skąd biorą się dodatkowe elektrony (ze^-) po lewej stronie równania, inaczej mówiąc, jaki czynnik pełni tu rolę reduktora?

Podsumowując, Doktorantka zaprojektowała i opracowała preparatykę całego szeregu bardzo różnorodnych układów sensorowych i przeprowadziła bardzo staranne, systematyczne badania ich działania. Należy podkreślić, że nie ograniczyła się jedynie do testowania ich użyteczności analitycznej lecz także starała się wyjaśnić zachodzące w nich zjawiska związane z selektywnym oddziaływaniem z analitem, a tym samym w sposób przemyślany określić ich mechanizm.

Należy też podkreślić, że duża część wyników uzyskanych przez Doktorantkę w ramach wykonywania pracy doktorskiej została już opublikowana w czterech artykułach zamieszczonych w bardzo dobrych czasopismach naukowych takich jak *Analyst*, *Analytical Chemistry* czy *Talanta*. Dodatkowo jest ona współautorką trzech innych publikacji z podobnej tematyki, co, biorąc pod uwagę jej stosunkowo krótki okres aktywności badawczej, składa się na bardzo poważny dorobek naukowy.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska w moim najgłębszym przekonaniu spełnia wszystkie wymagania wynikające z Ustawy o Stopniach i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki i w związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie pani mgr Katarzyny Klucińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę szeroki zakres pracy doktorskiej, rzetelne i systematyczne jej wykonanie, dojrzały sposób interpretacji wyników oraz ich opublikowanie w prestiżowych czasopismach z dziedziny chemii analitycznej, wnoszę o jej wyróżnienie.



Małgorzata Zagórska